

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP2005/016824

International filing date: 13 September 2005 (13.09.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2005-043995
Filing date: 21 February 2005 (21.02.2005)

Date of receipt at the International Bureau: 03 November 2005 (03.11.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2005年 2月21日

出 願 番 号
Application Number: 特願2005-043995

パリ条約による外国への出願
に用いる優先権の主張の基礎
となる出願の国コードと出願
番号
JP2005-043995
The country code and number
of your priority application,
to be used for filing abroad
under the Paris Convention, is

出 願 人
Applicant(s): 株式会社ホソダSHC

2005年10月19日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

中 嶋



【書類名】	特許願
【整理番号】	L05K01
【提出日】	平成17年 2月21日
【あて先】	特許庁長官 殿
【国際特許分類】	A23L 1/222
【発明者】	
【住所又は居所】	福井県福井市御幸3丁目2-21 株式会社ホソダSHC内
【氏名】	加藤 榮信
【発明者】	
【住所又は居所】	福井県福井市御幸3丁目2-21 株式会社ホソダSHC内
【氏名】	細田 真也
【特許出願人】	
【識別番号】	391012040
【氏名又は名称】	株式会社ホソダSHC
【代表者】	細田 真也
【手数料の表示】	
【予納台帳番号】	018555
【納付金額】	16,000円
【提出物件の目録】	
【物件名】	特許請求の範囲 1
【物件名】	明細書 1
【物件名】	要約書 1

【書類名】特許請求の範囲

【請求項 1】

水の存在下、グネツム種子を水溶性有機溶媒に室温乃至 70℃で浸漬して熟成させることを特徴とするグネツム種子抽出物の製造法。

【書類名】明細書

【発明の名称】グネツム種子抽出物の製造法

【技術分野】

【0001】

本発明は、食品中脂質の酸化を抑制及び生物の酸化的障害を保護する抗酸化作用、チロシナーゼ阻害作用、シクロオキシナーゼ阻害作用、リボキシゲナーゼ阻害作用、アセチルコリンエステラーゼ阻害作用、プロテインキナーゼC阻害作用、トボイソメラーゼ阻害作用、紫外線防御作用、抗炎症作用、免疫調節作用、養毛作用並びに有害微生物の増殖による異臭・悪臭に対し優れた抗菌・消臭作用を有するグネツム種子抽出物の製造法に関する。

【背景技術】

【0002】

グネツム（学名 *Gnetum gnemon* L.）の利用状況は、インドネシアでは若葉、花、未熟果実を野菜として、種子を潰してから乾燥し、油で揚げて菓子（ウンピン；emping）としているにすぎず、生理作用を活用する機能性食品への利用は未だ行なわれていない。

【0003】

グネツムの根に含まれているレスベラトロール重合体を含有する抗菌剤が特開2005-23000に開示され、レスベラトロール重合体の原料としてはグネツムの根が最も好ましいとしている。そのグネツムの根部からエタノール抽出してレスベラトロール重合体であるグネモノールA、グネモノールB、グネチンE、グネタール及びグネモシドEを得ているが、抗菌作用及び抗酸化作用を有するグネモノールE（レスベラトロール2量体）は検出されていない。

【0004】

木の根を原料に求めることは、量の確保が困難であると同時に非能率的であり、経済的とは言えない。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明は、上記問題点に鑑みてなされたものであり、抗菌作用や抗酸化作用などの生理作用を示す物質を失うことなく、種々の作用を有するグネツム種子抽出物の製造法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明者らは、抗菌作用及び抗酸化作用を有する物質をグネツム種子から効率よく抽出することを見出し、本発明を完成するに至った。即ち、本発明は、水の存在下、グネツム種子を水溶性有機溶媒に室温乃至70℃で浸漬して熟成させることを特徴とする種々の作用を有するグネツム種子抽出物の製造法に関する。

【発明の効果】

【0007】

本発明によると、東南アジアで常時食しているために量が豊富であるグネツム種子を原料にして簡易に製造されるグネツム種子抽出物は、抗菌作用及び抗酸化作用を有し、安全であると共に安価であるので、種々の加工食品やペット用品の日持ち向上効果、即ち美味しさ保持効果が期待される。

【発明を実施するための最良の形態】

【0008】

本発明で言うグネツム（学名 *Gnetum gnemon* L.、英名 *Gnemon tree*、インドネシア名 *Melinjo*、*Belinjo*）は、グネツム科の植物であり、東南アジアで広く栽培され、煮たり焼いたりして食料として利用されている。使用する種子（果実）は、そのままでもよいが、果皮及び種皮を除去した中身の仁、即ち胚及び胚

乳が好ましく、乾燥及び未乾燥（生）のいずれでも好適であり、裁断機や破砕機で破砕してもよく、粉碎機で粉碎してもよい。乾燥は天日干しや通常の乾燥でもよいが、香味を増すために50～70℃で加熱乾燥してもよい。種子の加熱物や加熱乾燥物であるウンピンも使用することができる。

【0009】

本発明において浸漬して抽出するために用いる水溶性有機溶媒は、メタノール、エタノール、2-プロパノール、アセトン、酢酸などの比較的沸点で水と混合しうる溶媒であり、単一又は混合して用いる。なお、エタノールの代用として焼酎やウオッカなどが、酢酸の代わりに米酢やリンゴ酢などの醸造酢なども使用することができる。その使用量は、グネツム種子1部に対し1～50部である。1部以下では抽出物の収量が低くなり、50部以上では溶媒留去に時間がかかるので非経済的で好ましくない。

【0010】

本発明における水の存在下とは、抽出工程（段階）で少なくとも5重量%（以後%は重量%を意味する）程度の水が抽出時の水溶性有機溶媒（抽出溶媒）に含まれることを言う。未乾燥の果実及び種子には約50%程度の水分が存在するので無水の水溶性有機溶媒を使用することができるが、水分15%以下の乾燥物では95%以下の水溶性有機溶媒を用いるのが好ましい。

【0011】

抽出段階の抽出溶媒に含まれる水の含有率は、5～95%の範囲であり、好ましくは20～80%、更に好ましくは30～70%である。その含有率が5%以下では抗菌作用及び抗酸化作用を示す物質に基づくRf値0.5付近のスポット（薄層クロマトグラフィー：以下TLCと略す；担体：シリカゲル；展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）が微かに認められる程度なので好ましくなく、95%以上ではRf値0.5付近のスポットを示す物質が水に難溶のために収量の低下をきたすので好ましくない。

【0012】

本発明で言う熟成とは、抗菌作用及び抗酸化作用を示す物質を浸漬中に経時的に増加させること、即ちグネツム種子中の酵素の動きを十分に行わせることを意味する。果皮及び種皮を除去して乾燥したグネツム種子を含水抽出溶媒に浸漬しておくこと、経時的にRf値0.15付近のスポット（TLC；担体：シリカゲル；展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）の減少に伴ってRf値0.5付近のスポット（TLC；担体：シリカゲル；展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）が増加するのに対し、無水溶媒を用いた浸漬では、Rf値0.15付近のスポットの減少及びRf値0.5付近のスポットの増加が認められない。

【0013】

グネツム種子抽出物中のRf値0.15付近のスポットを示す物質は320nmに吸収極大（紫外吸収スペクトル；溶媒：水）、 1000 cm^{-1} から 1075 cm^{-1} にかけて大きな吸収（赤外吸収スペクトル；KBr）を示すのに対し、Rf値0.5付近のスポットを示す物質では326nmに吸収極大（紫外吸収スペクトル；溶媒：50%エタノール）があり、 1000 cm^{-1} から 1075 cm^{-1} の吸収が大きく減少して 1115 cm^{-1} 付近に大きな吸収（赤外吸収スペクトル；KBr）が新たに出現している。

【0014】

本発明のグネツム種子抽出物は次のようにして製造することができる。乾燥及び／又は未乾燥のグネツム種子（果実）そのまま又はその破砕・粉碎物1部（重量）に前記溶媒及び水からなる抽出溶媒1～50部を加えて室温乃至70℃で浸漬、必要なら攪拌し、前記条件のTLCによりモニタリングを行いながら熟成度合いを確認した後、抽出液と不溶物を濾別する。抽出液を常圧又は減圧濃縮により溶媒を留去するか、又は凍結乾燥或いはスプレードライすることによりグネツム種子抽出物を得ることができる。

【0015】

グネツム種子の加熱物又は加熱乾燥物（ウンピン）そのまま又はその破砕・粉碎物1部（重量）に前記溶媒及び水からなる抽出溶媒1～50部を加えて室温乃至70℃で、必要な

ら攪拌して浸漬後、不溶物を濾過して除去する。濾液に（１）記載の不溶物 0.1～5 部を加えて（１）と同様に操作してグネツム種子抽出物を得ることができる。なお、（１）記載の不溶物は湿った状態及び乾燥状態の何れでも使用可能である。

【0016】

抽出温度は、日本における季節変動による成り行き温度である室温乃至 70℃が好ましい。より好ましい温度は 10～60℃である。70℃以上では酵素が失活するために好ましくない。あまり低温では酵素の動きが悪く収量が低下するので好ましくない。

【0017】

必要ならば、濾液に α -、 β -及び γ -シクロデキストリン、分岐（又は分枝）シクロデキストリンなどの包接剤、デキストリン、オリゴ糖などの水溶性糖類、酢酸、アスコルビン酸などの有機酸及びその塩、グリシン、グルタミン酸ナトリウムなどのアミノ酸、りん酸カリウム、硫酸ナトリウムなどの無機塩などの賦形剤、グリセリン脂肪酸エステル、アルキル硫酸ナトリウム、ショ糖脂肪酸エステル、ソルビタン脂肪酸エステル、レシチン、サポニン、ユッカ抽出物などの界面活性剤などを添加することができる。

【0018】

更に必要ならば本抽出物はシリカゲルや逆相カラムクロマトグラフ法などにより精製することができる。

【0019】

焼酎やウオッカのような含水アルコールを使用したときは、抽出液をそのままグネツム酒（果実酒）として供することができ、本発明に含まれる。また、米酢やリンゴ酢などの醸造酢を用いたときも抽出液をそのままグネツム酢として供することができ、本発明に含まれる。

【0020】

本発明で製造されるグネツム種子抽出物は、食品にあっては調味料、酸味料、甘味料、着色料、着色料、保存料、強化剤、増粘安定剤、乳化剤、品質改良剤などの食品添加物と混合することができ、化粧品及び衛生品にあっては賦形剤、乳化剤、溶解補助剤、pH調整剤、増粘安定剤、香料などを配合することができる。

【実施例】

【0021】

以下、本発明を比較例及び実施例により詳細に説明する。

比較例 1

種皮を剥離した乾燥種子（乾燥減量：8.5%）の粉碎物 100 g を 99%エタノール 300 ml に加えて 2 日間攪拌した後、不溶物を濾去してグネツム種子抽出液を得た。この抽出液を減圧濃縮して飴状のグネツム種子抽出物 4.8 g を得た。得られたグネツム種子抽出物を TLC で調べたところ、Rf 値 0.15（展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）及び 0.5（展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）付近の両スポットが微かに認められる程度であった。

【0022】

比較例 2

種皮を剥離した乾燥種子（乾燥減量：8.5%）の粉碎物 200 g を 99%エタノール 600 ml に加えて攪拌しながら 5 時間加熱還流した後、不溶物を濾去してグネツム種子抽出液を得た。この抽出液を減圧濃縮して飴状のグネツム種子抽出物 13.8 g を得た。得られたグネツム種子抽出物を TLC で調べたところ、Rf 値 0.15（展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）のスポットは認められたが、0.5（展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）付近のスポットは僅かに認められる程度であった。

【0023】

実施例 1

果皮及び種皮を剥離して乾燥粉碎したグネツム種子 100 g を 20%エタノール 500 g に一夜攪拌した後、不溶物を濾去してグネツム種子抽出液を得た。この抽出液を減圧濃縮して飴状のグネツム種子抽出物 10.1 g を得た。得られたグネツム種子抽出物を TLC

Cで調べたところ、Rf値0.15（展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）のスポット及び0.5（展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）付近のスポットは同程度に認められた。

【0024】

実施例2

果皮及び種皮を剥離して乾燥粉碎したグネツム種子50gを40%エタノール300gに1日浸漬後、50℃で5時間攪拌し、不溶物を濾去してグネツム種子抽出液を得た。この抽出液を減圧濃縮して飴状のグネツム種子抽出物6.8gを得た。得られたグネツム種子抽出物をTLCで調べたところ、Rf値0.15（展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）付近の小さいスポットに比べ、0.5（展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）付近のスポットは大きかった。

【0025】

実施例3

果皮及び種皮を剥離して乾燥粉碎したグネツム種子500gを60%エタノール2kgに7日間浸漬した後、不溶物を濾去してグネツム種子抽出液を得た。この抽出液を減圧濃縮して飴状のグネツム種子抽出物55gを得た。得られたグネツム種子抽出物をTLCで調べたところ、Rf値0.15（展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）付近のスポットが殆ど認められなかったのに対し、0.5（展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）付近のスポットは大きかった。

【0026】

実施例4

果皮及び種皮を剥離して乾燥破砕したグネツム種子200gを80%アセトン2kgに一夜浸漬後、60℃で5時間、室温で3日間攪拌し、不溶物を濾去してグネツム種子抽出液を得た。この抽出液を減圧濃縮して飴状のグネツム種子抽出物18.6gを得た。得られたグネツム種子抽出物をTLCで調べたところ、Rf値0.15（展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）付近のスポットが僅かに認められたのに対し、0.5（展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）付近のスポットは大きかった。

【0027】

実施例5

果皮及び種皮を剥離して乾燥破砕したグネツム種子1kgを50%メタノール3kgに5日間浸漬した後、不溶物を濾去してグネツム種子抽出液を得た。この抽出液を減圧濃縮して飴状のグネツム種子抽出物113gを得た。得られたグネツム種子抽出物をTLCで調べたところ、Rf値0.15（展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）付近のスポットが殆ど認められなかったのに対し、0.5（展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）付近のスポットは大きかった。

【0028】

実施例6

細断したグネツム果実150gにメタノール1.5kgを加えて40℃で10時間攪拌し、不溶物を濾去してグネツム種子抽出液を得た。この抽出液を減圧濃縮して飴状のグネツム種子抽出物4.9gを得た。得られたグネツム種子抽出物をTLCで調べたところ、Rf値0.15（展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）のスポット及び0.5（展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）付近のスポットは同程度に認められた。

【0029】

実施例7

ウンピン（Emping Belinjo；インドネシア、P. T. SEKAR ALAM製）55gに50%エタノール500gに室温で2日間浸漬した後、濾過した。この濾液に実施例3で濾別した不溶物20gを添加して室温で2日間攪拌し、不溶物を濾去してグネツム種子抽出液を得た。この抽出液を減圧濃縮して飴状のグネツム種子抽出物5.1gを得た。得られたグネツム種子抽出物をTLCで調べたところ、Rf値0.15（展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）付近のスポットが微かにしか認められなかつ

たのに対し、0.5（展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）付近のスポットは大きかった。

【0030】

実施例8

果皮及び種皮を剥離して乾燥粉碎したグネツム種子246gを30%エタノール3kgに50℃で3時間浸漬した後、濾過した。濾液を減圧濃縮してエタノールを留去後、濃縮液にグリセリン脂肪酸エステル25g及びデキストリン50gを溶解した後、スプレードライして粉末状のグネツム種子抽出物101.1gを得た。得られたグネツム種子抽出物をTLCで調べたところ、Rf値0.15（展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）付近のスポットに比べて0.5（展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）付近のスポットはやや小さかった。

【0031】

実施例9

果皮及び種皮を剥離して乾燥粉碎したグネツム種子350gを40%エタノール4kgに室温で3日間浸漬した後、不溶物を濾去してグネツム種子抽出液を得た。この抽出液にβ-サイクロデキストリン30gを添加し、30分間攪拌して減圧濃縮後、スプレードライして粉末状のグネツム種子抽出物55.2gを得た。得られたグネツム種子抽出物をTLCで調べたところ、Rf値0.15（展開液：クロロホルム／メタノール＝2／1）付近のスポットが微かにしか認められなかったのに対し、0.5（展開液：クロロホルム／メタノール＝4／1）付近のスポットは大きかった。

【0032】

各実施例で得られたグネツム種子抽出物の最小発育阻止濃度は、枯草菌が0.01～0.1%、大腸菌が0.1～0.2%、清酒酵母が0.1～0.2%、アオカビが0.2～0.4%であり、抗菌効果を示したが、比較例のグネツム種子抽出物には抗菌作用が認められなかった。

【0033】

実施例3及び比較例1で得られたグネツム種子抽出物の各0.02%溶液につき、1,1-ジフェニル-2-ピクリルヒドラジル（DP PH）ラジカル消去作用を調べたとき、実施例の消去作用は比較例の3.3倍であった。

【産業上の利用】

【0034】

抗菌作用及び抗酸化作用を有するグネツム種子抽出物は、食品やベットの用品に限らず、化粧品、衣類、衛生品等、種々の分野への利用が可能である。即ち、心疾患、脳疾患、アテローム性動脈硬化症、癌、リュウマチなどの膠原病、緑内障、アルツハイマー病などの成人病予防のための機能性食品（健康食品）、日焼け防止、日焼けによる炎症及びメラニン生成抑制による美白、養毛及び抜け毛防止のための化粧品、創傷の治癒促進のための衛生品、消臭生理用品などにも適用できる。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 抗菌作用や抗酸化作用などの種々の作用を有するグネツム種子抽出物の製造法を提供する。

【解決手段】 水の存在下、グネツム種子を水溶性有機溶媒に室温乃至70℃で浸漬熟成させてグネツム種子抽出物を得る。

【書類名】 手続補正書
【あて先】 特許庁長官殿
【事件の表示】
【出願番号】 特願2005- 43995
【補正をする者】
【識別番号】 391012040
【氏名又は名称】 株式会社ホソダSHC
【代表者】 細田 真也
【手続補正1】
【補正対象書類名】 明細書
【補正対象項目名】 0014
【補正方法】 変更
【補正の内容】

【0014】

本発明のグネツム種子抽出物は次のようにして製造することができる。

(1) 乾燥及び／又は未乾燥のグネツム種子(果実)そのまま又はその破碎・粉碎物1部(重量)に前記溶媒及び水からなる抽出溶媒1～50部を加えて室温乃至70℃で浸漬、必要なら攪拌し、前記条件のTLCによりモニタリングを行いながら熟成度合いを確認した後、抽出液と不溶物を濾別する。抽出液を常圧又は減圧濃縮により溶媒を留去するか、又は凍結乾燥或いはスプレードライすることによりグネツム種子抽出物を得ることができる。

【手続補正2】
【補正対象書類名】 明細書
【補正対象項目名】 0015
【補正方法】 変更
【補正の内容】
【0015】

(2) グネツム種子の加熱物又は加熱乾燥物(ウンピン)そのまま又はその破碎・粉碎物1部(重量)に前記溶媒及び水からなる抽出溶媒1～50部を加えて室温乃至70℃で、必要なら攪拌して浸漬後、不溶物を濾過して除去する。濾液に(1)記載の不溶物0.1～5部を加えて(1)と同様に操作してグネツム種子抽出物を得ることができる。なお、(1)記載の不溶物は湿った状態及び乾燥状態の何れでも使用可能である。

出願人履歴

3 9 1 0 1 2 0 4 0

20030513

名称変更

福井県福井市御幸3丁目2-21

株式会社ホソダSHC